



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) sobre *Streptococcus Pyogenes* ATCC 19615 comparado con amoxicilina in vitro.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR:

Jesús Alain García Horna (ORCID: 0000-0002-7287-5290)

ASESORES:

Mgtr. David Rene Rodríguez Díaz (ORCID: 0000-0002-9203-3576)

Jaime Abelardo Polo Gamboa (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

TRUJILLO – PERÚ

2020

DEDICATORIA

A DIOS

Agradezco a dios por permitirme llegar a esta etapa de mi vida con salud y mucha fortaleza, otorgándome fuerzas para poder superar todos los retos propuestos y poder superar todas las adversidades.

A MI MADRE

Por ser la única, la mejor de todas, la incondicional, por estar siempre a mi lado apoyándome, alentándome, Gracias por amarme cuidarme y por siempre confiar en mí. Te adoro te amo con todas mis fuerzas, gracias por todo sin ti no hubiera hecho realidad este gran sueño tan hermoso el ser médico.

A MI PADRE

Por dar todo el esfuerzo en trabajar duro, para que no me faltara nada y poder cumplir todos mis objetivos, además brindándome todos sus consejos y enseñanzas, con el único objetivo de ser una persona de bien y llegar a ser un buen profesional.

DEDICATORIA

A MI FAMILIA

Por haber sido mi apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria y a lo largo de mi vida. A todas las personas especiales que me acompañaron en esta etapa, aportando a mi formación tanto profesional y como ser humano.

A MIS ASESORES

Dr. David Rene Rodríguez Díaz. Mg. Jaime Abelardo Polo Gamboa, por su apoyo y sabios consejos, añadiendo su gran paciencia y dedicación para poder lograr con éxito la ejecución de esta investigación.

A LA UNIVERSIDAD

A todas esas personas que aportaron en mi formación profesional y por darme todas las enseñanzas para poder lograr ser un buen egresado y ser humano. A la vez por brindarme todas las oportunidades e instrumentos para facilitar mi formación como médico. Agradezco además la gran ayuda de mis maestros y compañeros en general por todo lo antes mencionado. Gracias por su infinito apoyo.

JESUS A. GARCIA HORNA

ÍNDICE

| | |
|--|-----|
| AGRADECIMIENTO | ii |
| DEDICATORIA..... | iii |
| ÍNDICE | iv |
| ÍNDICE DE TABLAS | v |
| RESUMEN..... | vi |
| ABSTRACT | vii |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA | 1 |
| 1.2 TRABAJOS PREVIOS | 2 |
| 1.3 TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA..... | 4 |
| II. MÉTODOS | 8 |
| III. RESULTADOS..... | 14 |
| Fuente: información recopilada por el investigador, 2020..... | 14 |
| Fuente: información recopilada por la investigadora, 2020..... | 15 |
| Fuente: Datos obtenidos por la investigadora, 2020..... | 17 |
| IV. DISCUSIÓN | 18 |
| V. CONCLUSIONES | 21 |
| VI. RECOMENDACIONES..... | 22 |
| VII. REFERENCIAS..... | 23 |
| VIII. ANEXOS..... | 28 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| TABLA 1 Descripción del efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Romero) a sus diferentes concentraciones frente a <i>Streptococcus pyogenes</i> comparado con Amoxicilina..... | 14 |
| TABLA 2 Prueba de ANOVA realizada entre los distintos grupos de control utilizados. | 15 |
| TABLA 3 Comparaciones múltiples del efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) sobre <i>Streptococcus pyogenes</i> entre sus concentraciones. | 15 |
| TABLA 4 Comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) entre los diferentes grupos de control utilizados..... | 17 |

RESUMEN

El estudio busca determinar la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre *Streptococcus pyogenes* comparado con amoxicilina, para lo cual se utilizó aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*, tiras con amoxicilina y cepas de *Streptococcus Pyogenes*. Mediante destilación por arrastre con vapor se logró obtener el aceite esencial, para luego con dimetilsulfoxido diluir a 25%, 50%, 75% y 100%, posteriormente añadir aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* y amoxicilina a tiras de papel absorbente, con el objetivo de colocar en los cultivos de *Streptococcus Pyogenes* y determinar el efecto antibacteriano mediante el método de difusión de discos de Kirby y Bauer. Se obtuvo como resultado que el *Streptococcus Pyogenes*, presenta sensibilidad a todas las concentraciones del aceite esencial, evidenciándose que al 100% presenta mayor efecto antibacteriano, siendo incluso mayor al de amoxicilina. En conclusión, se determinó que el aceite esencia de *Rosmarinus Officinalis* tiene mayor efecto antibacteriano que la amoxicilina in vitro.

Palabras Claves: Aceite esencial, *Rosmarinus officinalis*, *Streptococcus pyogenes*

ABSTRACT

The study seeks to determine the in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* on *Streptococcus pyogenes* compared to amoxicillin, for which essential oil of *Rosmarinus officinalis*, strips with amoxicillin and *Streptococcus Pyogenes* strains were used. By distillation by steam stripping, it was possible to obtain the essential oil, then dilute with 25%, 50%, 75% and 100% with dimethyl sulfoxide, then add essential oil of *Rosmarinus officinalis* and amoxicillin to strips of absorbent paper, with the aim of place in *Streptococcus Pyogenes* cultures and determine the antibacterial effect using the Kirby and Bauer disk diffusion method. As a result, *Streptococcus Pyogenes* showed sensitivity to all concentrations of essential oil, showing that 100% has a greater antibacterial effect, being even greater than that of amoxicillin. In conclusion, the essential oil of *Rosmarinus Officinalis* was determined to have a greater antibacterial effect than amoxicillin in vitro.

Keywords: Essential oil, *Minthostachys mollis*, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA

La medicina tradicional se ha usado desde mucho antes, desde la aparición de la especie, como tratamientos milenarios, dado esto ha ocupado un lugar muy importante en los tratamientos de muchas patologías.¹

Teniendo en cuenta que el 80% de la atención primaria de la población, se basa en la medicina tradicional, la organización mundial de la salud, ha creado una oficina de medicina tradicional dado la importancia de sus terapias y alcance a nivel mundial, por el contrario, estos departamentos siguen siendo poco implementados y reglamentados a nivel mundial. Por ende, debe de estar accesible y difundido información acerca de todos los productos estudiados como tratamiento utilizado medicina tradicional que sean seguros eficaces y de calidad. Según lo anterior mucha gente piensa que los remedios caseros son sinónimo de inocuidad por el hecho de ser natural, por ende, recurren a diversos tipos de tratamientos “naturales”.²

Las plantas medicinales tienen propiedades farmacológicas a las cuales se les atribuye sus beneficios, y esto es posible a que cuenta con un principio activo el cual le otorga ese efecto fisiológico favorable. Para ello es necesario un estudio riguroso que se debe realizar multidisciplinariamente, el cual debe contar con investigación por parte de médicos, biólogo, químicos y farmacéuticos. Estos principios activos están presentes en los llamados metabolitos, los cuales tienen composición compleja y ubicación en la planta específica, como, por ejemplo: encontramos gomas, terpenoides, flavonoides, etc. Estos a su vez pueden estar presentes en la totalidad de la planta o en alguna de sus partes.³

La naturaleza nos brinda infinidad de plantas medicinales entre una de estas encontramos al *Rosmarinus officinalis* (Romero), el cual para poder obtener su efecto se tiene que extraer el aceite esencial de sus hojas mediante destilación, este aceite esencial sigue siendo estudiado por múltiples autores por sus efectos antimicrobianos contra muchas cepas patógenas.⁴

1.2 TRABAJOS PREVIOS

Cueva J ⁵ (Perú, 2017) El estudio tuvo como objetivo demostrar el efecto antibacteriano del *Rosmarinus officinalis* sobre el *Streptococcus mutans*, las pruebas fueron realizadas en 30 placas Petrit mediante el método de agar en pozo, el cual contenía clorhexidina al 0.12% y aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*. Estas fueron incubadas por 72 y 168 horas. Tras la incubación se demostró que el *Rosmarinus officinalis* tenía mayor efecto antimicrobiano contra el *Streptococcus mutans* a las 72 horas a diferencia de la clorhexidina al 0.12% que fue a las 168 horas.

Sosa J ⁶ (Perú, 2015) El estudio se basa en la comparación de los efectos antimicrobianos del *Rosmarinus officinalis* y el agua ozonizada frente a las cepas de *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus mutans*. Para ello se incubo cepas de *S. mutans* y *E. faecalis* de forma independiente en agar Muller-Hinton, agregándoles discos de papel con aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* y agua ozonizada. Tras la incubación se obtuvo como resultados que el *Rosmarinus officinalis* tuvo efectos bactericidas y que este ultimo se potenciaba con el agua ozonizada.

Chilón S ⁷ (Perú 2015) el estudio se basa en la comparación inhibitoria bacteriana del aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* y la penicilina frente al *Streptococcus pyogenes*. Este estudio fue realizado con 40 cultivos incubados dando como resultado que se encontró diferencia significativa a concentraciones de 50% y 75% con efectos inhibitorios bacterianos sobre cepas de *Streptococcus pyogenes*.

Hader I et al⁸ (Colombia, 2010) el estudio comparo al extracto etanolico y el aceite esencia de *Rosmarinus officinalis* evaluando su concentración mínima inhibitoria (CIM) y poder bactericida. Los inóculos estudiados son: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes*. Obteniendo como resultado que el aceite esencial mostro mayor efecto antibacteriano contra bacterias gran positivas y gram negativas con CIM entre 512 – 4096ppm a comparación del extracto etanolico, el cual fue sensible para *S. typhimurium*, *S. sonnei* y *L. monocytogenes* con CIM de 1024 ppm. Se

usaron 2 controles nisina que obtuvo una inhibición de todos los agentes patógenos, además como siguiente control los preservantes usados en la industria alimentaria, la cual mostro menor actividad antimicrobiana que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*.

Rocha R⁹ (Perú 2016) en la investigación se estudió el efecto antibacteriano del aceite esencia de *Rosmarinus officinalis* frente al *Streptococcus mutans*, para lo cual su objetivo fue determinar porcentaje de concentraciones y cual presenta mayor efecto. Como resultado se demostró que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* presento efecto antimicrobiano en todas las concentraciones, logrando la inhibición del crecimiento in vitro del inóculo de *Streptococcus mutans*.

1.3 TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA.

Actualmente hay contaminación por microorganismos resistentes a la mayoría de antibióticos, la cual representa un riesgo para la salud. Debido a esto la tendencia del uso de medicina natural, ha llegado a constituir una de las principales alternativas como tratamientos antibacterianos utilizando sus extractos y/o aceites esenciales.

El 80 % de la población que vive en países en vías de desarrollo está utilizando plantas medicinales o tratamientos alternativos naturales como tratamientos curativos para múltiples enfermedades esto se basa según estudios de la organización mundial de la salud¹⁰

En el Perú existe una gran diversidad de especies de plantas medicinales, pero por el contrario las investigaciones de dichas plantas son escasas, por ende se ve la necesidad de aportar más estudios que fortalezcan el conocimiento y utilización correcta de estas alternativas medicinales naturales.¹⁰

Romero o *Rosmarinus officinalis* es una planta con muchas propiedades medicinales por sus metabolitos activos y es usada ampliamente en los tratamientos de medicina tradicional por poseer efectos antiespasmódicos y carminativos. Se halla en zonas arenosas y rocosas, pero por su buena adaptabilidad se ha encontrado en muchas zonas diferentes. Esta grandiosa planta pertenece a la familia de plantas Lamiaceae, que cuenta con las siguientes características, es arbustiva, hojas tubulares prismáticas estrechas pequeñas en forma de espiga, color verde oscuro, tallo leñoso y muy ramificado¹¹

La planta de *Rosmarinus officinalis* cuenta con hojas de 5mm aproximadamente de largo con corola bilabiada de una pieza. Además, presenta color verde, violeta pálido y con un cáliz verde o algo rojizo bilabiado. Como característica de las flores es que son muy aromática y melíferas además axilares y están ubicada en los más alto de las ramas. La época de florecimiento es en primavera, aunque puede encontrarse en otras estaciones, y esto se debe a que puede desarrollarse en diversas habidad y estaciones como habidad ideal. Algunos autores citan el estrés medioambiental como factor para la calidad de los extractos o composición

química de la sustancia o aceite esencial, pero en esta planta se ve que esto tiene poca relevancia por su buena adaptabilidad como habidad ideal.^{11, 12}

Debido al estrés medioambiental es que se debe tener muy en cuenta algunos factores como es las precipitaciones, temperatura y pH del suelo además del área geográfica y muy importante el momento en que se realiza la siega y su fase de desarrollo. Muy importantes es tener en cuenta la herencia genética de cada cultivo y su respectivo estrés abiótico dado que esto determina a la hora producir los quimiotipos tanto en concentración y calidad.¹²

Los principios activos y metabolitos que encontramos en las hojas es el ácido rosmarínico y el derivado rosmarínico, no olvidando el ácido carnoso que es muy sensible a la luz y calor generando su degradación, este último puede oxidarse logrando formar múltiples derivados como es el carnosol y 7-metil-epirosmanol.

^{12, 13}

el *Rosmarinus officinalis* presenta 20 compuestos químicos, en su mayoría se encuentra piperitona(23,7%) pipeño y linalool con 14.9%. Además, el aceite se compone de 6 monoterpenos, 2 sesquiterpenos oxigenados y uno que no es oxigenado y además de 11 monoterpenos oxigenados. El aceite esencial de romero es uno de los más estudiados y analizados además refieren que el estrés medioambiental genera como ya se mencionó diferencias en la cantidad y tipos de moléculas bioactivas presentes.¹³

El efecto antibacteriano del *Rosmarinus officinalis* se debe a que degrada la membrana citoplasmática de bacterias, esto conlleva a la pérdida de sus iones por ende una lisis por desestabilización de potencial, con su posterior pérdida de motilidad y transporte de membrana incluyendo la síntesis de ATP y proteínas de señalización, esto por ende genera una vulnerabilidad ante macrófagos. EL efecto antibacteriano se ha atribuido a que presenta mucha sensibilidad contra bacterias gram positivas, todo esto debido a sus flavonoides taninos, terpenoides, polifenoles y aceites esenciales.^{13, 14}

El patógeno a estudio es el *Streptococcus pyogenes* el cual es parte de la familia de *Streptococcus*. Es un coco grampositivo, capsulado, que no necesita mucho aporte de oxígeno, crece en forma de coco gran positivos agrupados en cadenas y se mantiene inmóvil sin formar esporas. A partir de los años 80 el estreptococo betahemolítico del grupo A, ha tomado mucha relevancia por generar secuelas no supurativas, en los últimos años ha presentado un papel muy importante como agente causante de shock tóxico, lo que ha generado pensar en una modificación epidemiológica de bacterias.¹⁵

El medio de contagio puede ser por varias vías en las cuales tenemos: directa o acción local, por contigüidad, vía hematógena o por emisión de toxinas al torrente sanguíneo. Para lograr infectar necesita adherirse tanto sea piel o mucosa. Este último se debe a que presenta fibrillas de ácido lipoteicoico en su pared el cual se une a la fibronectina de la célula humana del epitelio.¹⁵

1.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Tiene efecto antibacteriano el aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) sobre *Streptococcus pyogenes* comparado con amoxicilina in vitro?

1.5 JUSTIFICACIÓN

Enfermedades como escarlatina, amigdalitis y las que más cuidado a tener fascitis necrotizante y shock séptico, tiene como etiología al *Streptococcus pyogenes*, además de una participación en las afecciones mas comunes en los consultorios externos como dolor de garganta, los cuales presentes en 15% en adultos y 20 a 30% en niños, no obstante la faringitis aguda (FA) también tiene como etiología a este patógeno con un 15% a 30%, por ende se recomienda una detección y tratamiento oportuno para evitar complicaciones. El *Rosmarinus officinalis* como tratamiento natural contra este patógeno se considera de vital importancia dado que nos permite tener más amplia las posibilidades de ayuda terapéutica, para ello se motiva a la realización de estudios e investigaciones con el fin de corroborar y definir bien el efecto antibacteriano ante que patógenos tiene mayor sensibilidad bactericida, sobre todo contra este *Streptococcus pyogenes* causante de muchas patologías importantes.

1.6 HIPÓTESIS

- H1: El aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) tiene efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pyogenes* comparado con amoxicilina in vitro.
- H0: El aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) no tiene efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pyogenes* comparado con amoxicilina in vitro.

1.7 OBJETIVOS

General

- Demostrar el Efecto Antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Streptococcus pyogenes* comparado con amoxicilina in vitro.

Específicos

1. Obtener el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero).
2. Determinar a qué concentración 25, 50, 75 o 100% del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) produce mayor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pyogenes*.
3. Comparar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* con amoxicilina sobre *Streptococcus pyogenes*.

II. MÉTODO

2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

- Estudio de tipo experimental
- Diseño: Estímulo creciente.

| | | |
|----------------------|----------------|------|
| G: A ---0 | | |
| DMSO ---- O | | |
| X ₁ ----- | O ₁ | 100% |
| X ₂ ----- | O ₂ | 75% |
| X ₃ ----- | O ₃ | 50% |
| X ₄ ----- | O ₄ | 25% |

Dónde:

A: Disco de amoxicilina

DMSO: Dimetilsulfoxido.

X: Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero)

O: Halo de inhibición sobre *Streptococcus pyogenes*

2.2 VARIABLE OPERACIONALIZACIÓN

VARIABLES

Variable independiente:

- ✓ Tratamiento alternativo con Rosmarinus officinalis (Romero)
- ✓ Tratamiento farmacológico con amoxicilina

Variable dependiente:

- ✓ Efecto antibacteriano sobre Streptococcus pyogenes

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

| VARIABLE | DEFINICIÓN CONCEPTUAL | DEFINICIÓN OPERACIONAL | INDICADOR | TIPO DE VARIABLE |
|---|---|---|--|------------------------------|
| Aceite esencial de Rosmarinus officinalis como tratamiento optativo | Utilización de aceite esencial de Rosmarinus officinalis como antibacteriano contra Streptococcus pyogenes. ²⁸ | En una placa Petri donde se sembró Streptococcus pyogenes, se colocará un disco empapado con el aceite esencial extraído a una determinada concentración. ²¹ | Concentraciones al: 100% 75% 50% 25% | Cuantitativo Continua |
| Tratamiento farmacológico con amoxicilina | Es cuando se enfrenta el disco de amoxicilina al cultivo de cepas de Streptococcus Pyogenes | En la placa Petri que contenga a Streptococcus pyogenes se colocara el disco de amoxicilina. ⁷ | Concentración: 100%, | Cuantitativa Continua |

| | | | | |
|--|---|--|--|---------------------|
| Efecto Antibacteriano sobre Streptococcus pyogenes | Inhibición del crecimiento, desarrollo o eliminación de Streptococcus Pyogenes sin dañar el organismo infectado | Medida del halo de inhibición menor a 16 mm en las placas de Petri para considerar sensible. ²³ | <ul style="list-style-type: none"> ● Presencia de inhibición ● Sin presencia de inhibición | Cualitativo Nominal |
|--|---|--|--|---------------------|

2.3 METODOLOGÍA

POBLACIÓN Y MUESTRA

Población:

Placas Petri que fueron habilitadas por la facultad de medicina de la universidad Cesar Vallejo, que estén cultivadas con Streptococcus pyogenes.

Muestra:

Es aquella población que contenga la cantidad necesaria de repeticiones para poder validar la investigación. La cantidad específica se obtuvo mediante la siguiente fórmula estadística. ²⁴

$$n = \frac{(Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\underline{X_1} - \underline{X_2})}$$

Donde:

✓ n = Número mínimo de muestras mínimas

✓ $Z_{\frac{\alpha}{2}} Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96$

✓ $Z_{\beta} Z_{\beta} = 0.84$

✓ $\overline{x_1 x_1} = 13\text{mm}^{10}$

✓ $\overline{x_2 x_2} = 21\text{mm}^5$

✓ σ^2 : 1.5^5

Desarrollando la fórmula antes mencionada se obtuvo que la cantidad necesaria es de 10. ²⁴

UNIDAD DE ANÁLISIS

Todas las placas Petri con cultivos de *Streptococcus pyogenes* que contenga aceite esencial en cantidades adecuadas para cada concentración.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

✓ Criterio de inclusión:

Cultivos puros de *Streptococcus pyogenes*

Cultivos de *Streptococcus pyogenes* de 18 a 24 horas

✓ Criterios de exclusión

Cultivos de *Streptococcus pyogenes* contaminados.

Cultivos de *Streptococcus pyogenes* con más de 24 horas

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

Técnica: inspección y comprobación in situ del evento

El procedimiento: la obtención de la información se realizará mediante la recolección de hojas de *Rosmarinus officinalis*, para lo cual se acudirá al mercado la Hermelinda y se obtendrá aproximadamente 5 kg de dichas hojas.¹⁷

El aceite esencia será obtenido mediante destilación, el cual es favorecido por el arrastre de vapor de agua, la ventaja de este método es de que el vapor de agua puede asociarse muy bien a las moléculas de aceite. El sistema de destilación cuenta con dos balones de 1000ml para el agua destilada y el segundo de 2000ml para las plantas. Para la extracción se utilizará 1500 ml de agua destilada y 600mg de hojas de *Rosmarinus officinalis*, luego se tendrá que usar una cámara de extracción que consta de un recipiente hermético con una salida

y una entrada de vapor, en donde estarán dispuestas las hojas de *Rosmarinus officinalis*.^{16, 18}

El aceite esencial será obtenido cuando la presión del vapor rompa las células de las hojas, con lo cual libera la esencia de esta, siendo atrapada en gotitas de vapor, estas posteriormente son condensadas y transformadas a líquido. Posteriormente recolectadas en un almacenamiento llamado embudo de decantación. El producto obtenido será de alta pureza. Este será depositado y almacenado en frascos de vidrio con tapa rosca y cubierto con papel aluminio para evitar alteración con la luz solar^{19; 20}

Según la norma técnica N° 30 de vigilancia de distintos tipos de bacterias se procede a la compra de discos de sensibilidad de 250mg de amoxicilina para la comparación de eficacia clínica validada.

Ya obtenido el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* se procede a la dilución en porcentaje con un solvente como es el dimetilsulfoxido (DMSO): las concentraciones van variando de acuerdo al porcentaje y su relación y proporción, como es el caso de los siguientes: 100% el cual se utiliza 100ul de aceite esencial con proporción 1:1; 75% con una proporción de aceite esencial de 3:4, 50% con una proporción de 1:2, 25% con una proporción de aceite esencial de 1:4, la cual quiere decir que 1 de 4 partes de dimetilsulfoxido será reemplazado por aceite esencial.^{21, 23}

Posteriormente con la obtención de las cepas de *Streptococcus pyogenes* serán cultivadas en una placa Petri en un medio adecuado, para ello se procederá a diluir 4 colonias de *Streptococcus pyogenes* en 3ml de solución salina, se removerá con un hisopo buscando una turbidez y suspensión de 0.5 de la escala de Mc Farland..^{22, 24}

Luego se procederá a sembrar 0.1ml de dilución con las colonias de *Streptococcus pyogenes* en un medio de cultivo como es el Mueller Hinton en las placas Petri, para ello se necesita esparcir homogéneamente para lograr una distribución uniforme. A continuación, se prepara discos de papel con aceite esencia de *Rosmarinus officinalis* mediante el método de Kirby y Bauer.

Con las placas Petri preparadas se procederá a colocar el aceite esencia de *Rosmarinus officinalis* en los discos de papel con la cantidad necesaria de acuerdo a su concentración: 1.25uL(25%), 2.5uL(50%), 3.5uL(75%) y 5uL(100%) logrando acumular 12 discos de cada concentración, los cuales a la vez serán ubicados en la placa Petri en sentido horario de forma progresiva de su concentración. Luego se procederá a aplicar una leve presión para poder obtener un contacto completo además de respetar la mínima distancia de 25 mm entre cada disco, queda pertinente agregar la colocación del disco de amoxicilina como control de eficacia. ²¹

Las placas Petri ya preparadas son incubadas en un horno a temperatura corporal de 37° por un aproximado de 24 horas, posterior se realizará su lectura y medida de los halos inhibitorios, esto será posible utilizando una regla de 30cm. Para evitar errores se sostendrá la placa Petri en alto con luz continua en la cara externa para disminuir confusiones o lecturas mal hechas. ²¹

Utilizando una ficha de recolección de datos se registrará la cantidad de placas con sus respectivos resultados de concentraciones

2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Mediante la utilización de Microsoft Excel 2013 se procedió a elaborar la tabla de datos, en donde se identifica los grupos a estudiados según sus porcentajes de diluciones. Con el tipo estadístico analítico se procedió a realizar el análisis de los datos, el cual infiere la probabilidad de éxito o fracaso de las pruebas, describiendo los datos gráficos y resúmenes numéricos. Con los datos obtenidos se aplicó ANOVA que es la prueba estadística, además de promedios y varianzas, logrando analizar los objetivos planteados en el estudio. Posteriormente se hace el registro de los halos inhibitorios de las 48 horas y controles tanto negativo como positivo. Según el análisis se procede a realizar inferencias y conclusiones que van a determinar la efectividad o no del tratamiento alternativo.

2.6 ASPECTOS ÉTICOS:

La veracidad en el contenido de la publicación de los resultados del estudio será respetada según como dicta los principios éticos del capítulo 6 del código de ética del colegio médico del Perú, específicamente el su Art. 48. Además, se ha tenido en cuenta la importancia de todos aspectos de bioseguridad en la realización de los procedimientos respectivos, como mandan los estatutos, para proteger la integridad de los investigadores. A la vez se hace adjunto una constancia de asesoramiento por el respectivo asesor.

III. RESULTADOS

TABLA 1 DESCRIPCIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE ROSMARINUS OFFICINALIS (ROMERO) A SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES FRENTE A STREPTOCOCCUS PYOGENES COMPARADO CON AMOXICILINA.

| Concentración de aceite esencial de Rosmarinus officinalis y fármaco control | N | Media | Desviación estándar | Error estándar | 95% del intervalo de confianza para la media. | | Mínimo | Máximo |
|--|----|-------|---------------------|----------------|---|------------------|--------|--------|
| | | | | | Límite inferior. | Límite superior. | | |
| Aceite de Romero 25% | 10 | 19,38 | 1,502 | 0,475 | 18,31 | 20,45 | 18 | 23 |
| Aceite de Romero 50% | 10 | 27,59 | 1,381 | 0,437 | 26,60 | 28,58 | 26 | 30 |
| Aceite de Romero 75% | 10 | 33,52 | 2,388 | 0,755 | 31,81 | 35,23 | 30 | 39 |
| Aceite de Romero 100% | 10 | 36,66 | 1,489 | 0,471 | 35,59 | 37,73 | 34 | 39 |
| Amoxicilina | 10 | 33,93 | 1,540 | 0,487 | 32,83 | 35,03 | 30 | 36 |
| DMSO | 10 | 0,00 | 0,000 | 0,000 | 0,00 | 0,00 | 0 | 0 |
| Total | 60 | 25,18 | 12,785 | 1,651 | 21,88 | 28,48 | 0 | 39 |

FUENTE: INFORMACIÓN RECOPIADA POR EL
INVESTIGADOR, 2020

TABLA 2 PRUEBA DE ANOVA REALIZADA ENTRE LOS DISTINTOS GRUPOS DE CONTROL UTILIZADOS.

ANOVA

Efecto antibacteriano

| | Suma de cuadrados | Gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|-------------------|----|------------------|---------|------|
| Entre grupos | 9513,890 | 5 | 1902,778 | 789,741 | ,000 |
| Dentro de grupos | 130,106 | 54 | 2,409 | | |
| Total | 9643,996 | 59 | | | |

FUENTE: INFORMACIÓN RECOPIADA POR LA
INVESTIGADORA, 2020

TABLA 3 COMPARACIONES MÚLTIPLES DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE ROSMARINUS OFFICINALIS (ROMERO) SOBRE STREPTOCOCUS PYOGENES ENTRE SUS CONCENTRACIONES.

HSD Tukey

| (I) Agente antibacteriano | (J) Agente antibacteriano | Diferencia de medias (I-J) | Error estándar | Sig. | intervalo de confianza al 95% | |
|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------|------|-------------------------------|-----------------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior |
| Aceite de Romero 25% | Aceite de Romero 50% | -8,210* | ,694 | ,000 | -10,26 | -6,16 |
| | Aceite de Romero 75% | -14,140* | ,694 | ,000 | -16,19 | -12,09 |
| | Aceite de Romero 100% | -17,280* | ,694 | ,000 | -19,33 | -15,23 |
| | Amoxicilina | -14,550* | ,694 | ,000 | -16,60 | -12,50 |
| | DMSO | 19,380* | ,694 | ,000 | 17,33 | 21,43 |
| Aceite de Romero 50% | Aceite de Romero 25% | 8,210* | ,694 | ,000 | 6,16 | 10,26 |
| | Aceite de Romero 75% | -5,930* | ,694 | ,000 | -7,98 | -3,88 |
| | Aceite de Romero 100% | -9,070* | ,694 | ,000 | -11,12 | -7,02 |
| | Amoxicilina | -6,340* | ,694 | ,000 | -8,39 | -4,29 |
| | DMSO | 27,590* | ,694 | ,000 | 25,54 | 29,64 |

| | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------|----------|------|------|--------|--------|
| Aceite de Romero 75% | Aceite de Romero 25% | 14,140* | ,694 | ,000 | 12,09 | 16,19 |
| | Aceite de Romero 50% | 5,930* | ,694 | ,000 | 3,88 | 7,98 |
| | Aceite de Romero 100% | -3,140* | ,694 | ,000 | -5,19 | -1,09 |
| | Amoxicilina | -,410 | ,694 | ,991 | -2,46 | 1,64 |
| | DMSO | 33,520* | ,694 | ,000 | 31,47 | 35,57 |
| Aceite de Romero 100% | Aceite de Romero 25% | 17,280* | ,694 | ,000 | 15,23 | 19,33 |
| | Aceite de Romero 50% | 9,070* | ,694 | ,000 | 7,02 | 11,12 |
| | Aceite de Romero 75% | 3,140* | ,694 | ,000 | 1,09 | 5,19 |
| | Amoxicilina | 2,730* | ,694 | ,003 | ,68 | 4,78 |
| | DMSO | 36,660* | ,694 | ,000 | 34,61 | 38,71 |
| Amoxicilina | Aceite de Romero 25% | 14,550* | ,694 | ,000 | 12,50 | 16,60 |
| | Aceite de Romero 50% | 6,340* | ,694 | ,000 | 4,29 | 8,39 |
| | Aceite de Romero 75% | ,410 | ,694 | ,991 | -1,64 | 2,46 |
| | Aceite de Romero 100% | -2,730* | ,694 | ,003 | -4,78 | -,68 |
| | DMSO | 33,930* | ,694 | ,000 | 31,88 | 35,98 |
| DMSO | Aceite de Romero 25% | -19,380* | ,694 | ,000 | -21,43 | -17,33 |
| | Aceite de Romero 50% | -27,590* | ,694 | ,000 | -29,64 | -25,54 |
| | Aceite de Romero 75% | -33,520* | ,694 | ,000 | -35,57 | -31,47 |
| | Aceite de Romero 100% | -36,660* | ,694 | ,000 | -38,71 | -34,61 |
| | Amoxicilina | -33,930* | ,694 | ,000 | -35,98 | -31,88 |

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

TABLA 4 COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE ROSMARINUS OFFICINALIS (ROMERO) ENTRE LOS DIFERENTES GRUPOS DE CONTROL UTILIZADOS.

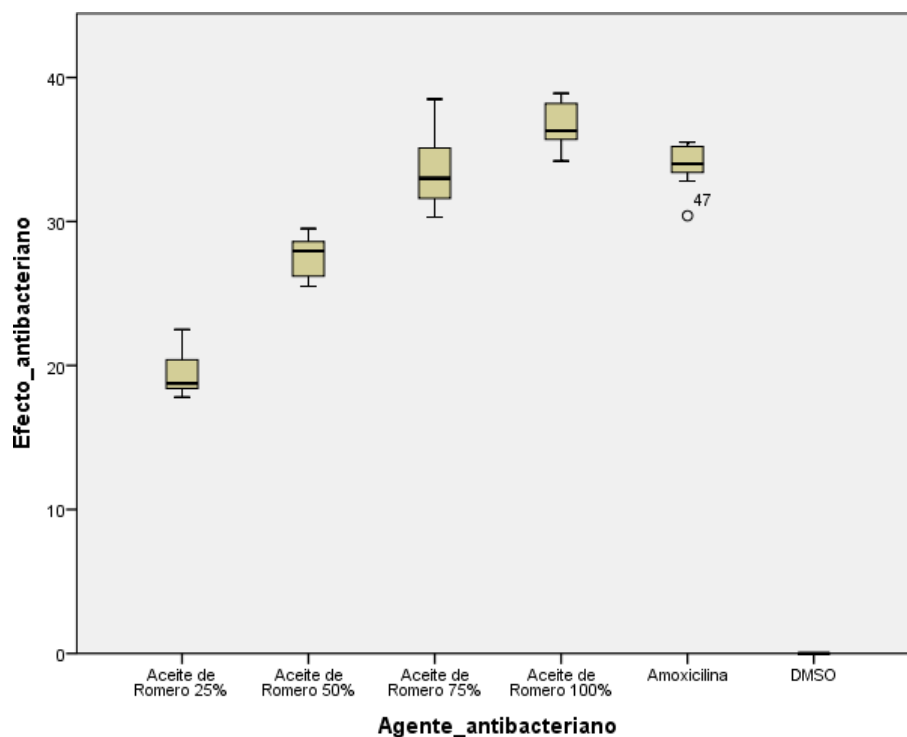
HSD Tukey^a

| Agente antibacteriano | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | | |
|-----------------------|----|------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| DMSO | 10 | ,00 | | | | |
| Aceite de Romero 25% | 10 | | 19,38 | | | |
| Aceite de Romero 50% | 10 | | | 27,59 | | |
| Aceite de Romero 75% | 10 | | | | 33,52 | |
| Amoxicilina | 10 | | | | 33,93 | |
| Aceite de Romero 100% | 10 | | | | | 36,66 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | ,991 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

GRAFICO 1 DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE ROSMARINUS OFFICINALIS (ROMERO), EN COMPARACIÓN EL EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO CON AMOXICILINA EN STREPTOCOCCUS PYOGENES



FUENTE: DATOS OBTENIDOS POR LA INVESTIGADORA, 2020

IV. DISCUSIÓN

En el presente estudio de investigación donde se compara el efecto antibacteriano del *Rosmarinus officinalis*. se realizó de manera experimental, con estímulo creciente.

Se analizó el efecto bactericida a diferentes concentraciones para poder saber específicamente si era un factor importante la cantidad del metabolito como parte de su efecto como concentración mínima inhibitoria. Para ello se realizó 10 repeticiones en cada tipo de concentración y control donde los resultados se discuten a continuación.

En la Tabla 1; nos muestra los resultados donde se deduce que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* tiene efecto bactericida en todas las concentraciones, pero como se pudo hablar anteriormente, era importante saber si la cantidad de este aceite tendría importancia en el grado de inhibición bacteriana y pues, queda demostrado que a mayor concentración del aceite esencial, mayor es el efecto bactericida, logrando su mayor poder en el de 100% donde pudo ser hasta más eficaz que el control con amoxicilina. Obteniendo un halo de inhibición de 36,66 mm a comparación de 33,93 mm de halo de inhibición de la amoxicilina. Además datos similares se encuentran en investigaciones hechas por otros autores como es el caso de Rocha R (Perú 2016), donde se utilizó 5 concentraciones (5,25,50,75 y 100%), obteniendo similares resultados, como efecto de inhibición en todas las concentraciones y mayor en cuanto mayor porcentaje de aceite esencial, claro está que el agente patógeno fue *Streptococcus mutans*.²⁵

En la tabla 2; tenemos que al realizar la prueba estadística ANOVA, entre los grupos control en estudio, se obtienen resultados con significancia estadística; así mismo en la tabla 3 y 4; al realizar comparaciones múltiples entre grupos con el estadístico De TUKEY, constatamos que con un intervalo de confianza al 95% y $P < 0.05$ hay significancia estadística.

En el gráfico 5; en el presente se evidencia que el efecto bactericida es mayor ante mayor es la concentración y es por ende directamente proporcional al porcentaje de aceite esencial utilizado. Además, se puede observar que al porcentaje de 75% el efecto antibacteriano es casi similar al control con amoxicilina, pero al 100% sobrepasa la eficacia donde queda más que evidenciado el poder bactericida del *Rosmarinus officinalis* ante un medicamento cotidiano utilizado como la amoxicilina y esto se ve en los halos inhibitorios los cuales son 36,66mm para aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* en comparación de los 33,52mm de la amoxicilina.

Y esta eficacia bactericida esta debida a los múltiples metabolitos activos que se encuentran como es flavonoides, terpenoides, polifenoles, tanino, los cuales tienen el poder permeabilizar la membrana generando su pérdida de integridad, y su posterior pérdida de potencial, transporte y síntesis de ATP. Con lo que se no solo actúa un metabolito, sino múltiples metabolitos, por ende, nos deja mucho por investigar para poder esclarecer los posibles factores extras que puedan contener esta serie de metabolitos, que muestran mejor efecto antimicrobiano ^{25, 26}

No obstante, similares resultados muestran múltiples estudios en los cuales tenemos a: Teixeira L, en el 2012, donde llevo un estudio demostrando el efecto bactericida inhibitorio de *R. officinalis* frente diversos patógenos como *S. mutans*,

S.sobrinus , *P. gingivalis*, etc. De igual manera que el presente estudio, Teixeira encontró que el aceite esencial de *R. officinalis* tiene un buen poder de inhibición de crecimiento ante las bacterias estudiadas.²⁶

Castaño H, en el 2010; ejecuto un estudio evaluando la el poder antibacteriano del *R. officinalis*, y este estudio lo baso en la comparación del aceite esencial y el extracto etanolico frente a patógenos de interés alimentario. El investigador concluye que ambos tienen excelente poder antibacteriano el cual es mayor a comparación de sustancias utilizadas como preservantes alimentarios, por ende, queda en poder de investigación su estudio a profundidad para su uso en la industria dado que posee un gran potencial mucho mayor que los utilizados actualmente.²⁷

Según los resultados del presente trabajo, se demuestra claramente los grandiosos beneficios, los cuales son respaldados con estudios previos que dan certeza del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero). Esto cobra real importancia dado que puede ser de mucha ayuda en la utilización y complementación de tratamientos actuales, además podría implementarse y mejorar su producción para su comercialización.

Además, tendría un impacto importante en las zonas rurales alejadas donde se puede difundir información, métodos de extracción y utilización del aceite esencial, debido que estas zonas se presenta una realidad de escasos, poco acceso y bajos recursos a medicamento.

Además, presenta muchísimos beneficios por su gran espectro antibiótico y bajo costo por ende puede ser considerado de mucha ayuda en los tratamiento y recomendaciones medicas para mejor la eficacia de sus tratamientos ya conocidos.

Esta especie vegetal y su extracción natural podría ser considerada de mucha ayuda y aporte ante las múltiples patologías que cubre su espectro antibacteriano.

V. CONCLUSIONES

- Se pudo obtener satisfactoriamente el aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* por medio de arrastre por vapor.
- *Rosmarinus officinalis* presenta efecto antibacteriano sobre *Streptococcus pyogenes* a todas las concentraciones utilizadas en la investigación.
- *Rosmarinus officinalis* presenta mayor efecto inhibitorio que amoxicilina a la concentración del 100%.
- Se demostró que el aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* tiene mayor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus Pyogenes* comparado con amoxicilina in vitro.

VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Promover la ejecución de estudios que puedan determinar los efectos de todos los componentes del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*, esto realizándose mediante un análisis cuantitativo y cualitativo de cada metabolito activo, para así poder determinar cada uno de sus efectos y su poder como bactericidas.
- ✓ Profundizar los estudios de la actividad y beneficios antibacterianos del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero), frente a más cepas patógenas, para poder demostrar todo su poder bactericida. Lo que permitiría más adelante poder añadirlos de manera protocolar a los tratamientos tradicionales.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Helmintiasis transmitidas por el suelo. OMS. España, Madrid 2020 enero 12. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>
2. Cabieses F.. La racionalización de lo irracional. Apuntes de Medicina Tradicional 1993 Lima. Tomo I y II. 3° ed. Editorial A&B S.A.
3. Corrales U. Algunas pandemias en la humanidad. Una mirada a sus determinantes. Revista CES Salud Pública. 2015 mayo 15; 89-93. Disponible en: http://revistas.ces.edu.co/index.php/ces_salud_publica/article/viewFile/3541/2410
4. Bussman C, Ashley G. Actividad antibacteriana de plantas medicinales en Perú.. 2009 enero 12; 16(1): 93 – 103. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/228108007_Antibacterial_Activity_of_Medicinal_Plants_of_Northern_Peru_-_Part_II_Actividad_antibacteriana_de_plantas_medicinales_de_Peru_-_Parte_II
5. Cueva J. “Actividad antimicrobiana del aceite esencial de romero (*rosmarinus officinalis*) frente al crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 *in vitro*. Universidad privada Norbert Wiener; 2017. Lima; Disponible en <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1031/TITULO%20-%20Cueva%20Rosales%2C%20Javier.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Sosa J. Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) y del agua ozonizada sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. Universidad Señor de Sipan; Pimentel, 2015 enero 16; Disponible en: <http://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/uss/129/tesis%20final%20josue%2025-11-2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

7. Chilon S. Efecto inhibitorio in vitro de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) comparado con penicilina sobre cepas de *Streptococcus pyogenes*. UPAO. Pimentel 2015 Agosto - Noviembre. Disponible en: http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/2581/1/RE_MED.HUMA_SAUL_CHILON_EFECTO.INHIBITORIO.IN.VITRO.DE.ROSMARINUS.OFFICINALIS_DATOS.pdf

8. Hader I, CIRO G, Zapata M, Jiménez R. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. 2010; 17(2): 149-154. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/237025719_ACTIVIDAD_BACTERICIDA_DEL_EXTRACTO_ETANOLICO_Y_DEL_ACEITE_ESENCIAL_DE_HOJAS_DE_Rosmarinus_officinalis_L_SOBRE_ALGUNAS_BACTERIAS_DE_INTERES_ALIMENTARIO

9. Rocha R. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Dissertation]. Universidad nacional de Trujillo. Trujillo 2016. . Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/7525>

10. Román SI. Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal [Dissertation]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología; Lima: 2013.

11. Barrera A, Eunice G. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. Rev Cubana Plant Med. Cuba. 2013. 18(2): 237-246. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000400007

12. Teixeira L. Avaliação do uso do Extrato de Alecrim de Jardim (*Rosmarinus officinalis* Linn) no controle do Biofilme Dental [Dissertation]. Universidad Federal de Paraná. Curitiba, Brasil:. 2012.

13. Volcao I, Marques J, Ribeiro G. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* sobre patógenos alimentares. XX congresso de iniciação científica 2011. disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/9df0/d258312f544a713e23e98e93859d1169c478.pdf>
14. Moreno M, Núñez G. Efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de las flores de manzanilla (matricaria chamomilla) frente a cepas de *Streptococcus pyogenes* ATTC 19615, in vitro. [Dissertation]. Universidad inca Garcilaso de la Vega. Lima 2018 disponible en: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/2429>
15. Rivera M. Estreptococo Beta Hemolítico grupo A (*Streptococcus pyogenes*) [revista en Internet]. 2006. 18(2): 237-246.
16. Pamo R. Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2009; 26 (3): 314-23.
17. Plazas Gonzales E. Curso de aceites esenciales: Química y proceso de producción. Centro de Investigación y Desarrollo Científico. Bogotá 2011.
18. Coy CA. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. Rev Cub de Plantas Medicinales. 2013; 18(2):237-246.
19. González- Michel, A. Guía técnica del cultivo de romero (*Rosmarinus officinalis*). Edit. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur, México. 72 p. 2013.
20. Mohammand A. The impact of onions and figs extracts on *Streptococcus pyogenes* bacteria Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental

- Sciences. 2016. Diciembre . 6(4), 128-135. Disponible en:<https://search.proquest.com/central/docview/1866280326/fulltextPDF/A4FEC6BE61874094PQ/7?accountid=37408>
21. Tacca Q. Janet E. Macedo V. Sonia. Aquino A. Luz M. Efecto antibacteriano in vitro del *Rosmarinus Officinalis* sobre el *Streptococcus Viridans*, *Actinomyces sp* y *Lactobacillus spp*. Rev. estomatol. Altiplano.2014 Jul-Dic; 1(2). Disponible en: http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/5774/1/RE_ESTO_CYNTHIA.AGUILAR_EFECTO.ANTIBACTERIANO_DATOS.pdf
 22. Rondón R. Evaluación antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. “romero” frente a bacterias patógenas Grampositivas y Gramnegativas. [Dissertation]. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, 2013. Disponible en: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/2968>
 23. Solano K, Moya T, Zambrano M. Inhibición del *Streptococcus mutans*, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de *Rosmarinus officinalis* “Romero” Vol.19, N° 2, Ecuador.2016 Jul-Dic; 19(2) 29-34. Disponible en: <file:///C:/Users/mili/Downloads/Dialnet-InhibicionDelStreptococcusMutansMedianteElUsoDeExt-5815882.pdf>
 24. Hernandez R. Metodología de la investigación. 3° ed. Mexico: McGraw-Hill; c2003. 705p.
 25. Rocha R. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Dissertation] Trujillo 2016. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/7525>
 26. Coy C, Acosta G. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. Rev Cubana Plant Med. Colombia. 2013 Abr-Jun; 18(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200007
 27. Bonilla D, Mendoza Y, Rojas A, Pinzón R, Nerio L. Efecto del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre *Porphyromonas gingivalis* cultivada in vitro. Rev.

Colomb. Cienc. Quím. Farm. Colombia. 2016 Abr-Jun; 45(2), 275-287. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v45n2/v45n2a07.pdf>

28. Coy C, Eunice G. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. Rev Cubana Plant Med Vol.18 no.2. pag.237 - 46 Habana – Cuba. Abril – junio. 2013. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n2/pla07213.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD DEL AUTOR



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD DEL AUTOR

Yo García Horna, Jesús Alain, alumno de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Escuela Profesional de Medicina, de la Universidad César Vallejo, (filial Trujillo), declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada: **“Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) sobre *Streptococcus Pyogenes* ATCC 19615 comparado con amoxicilina in vitro.”**, son:

1. De mi autoría.
2. El presente Trabajo de investigación / Tesis no ha sido plagiado ni total, ni parcialmente.
3. El Trabajo de Investigación / Tesis no ha sido publicado ni presentado anteriormente.
4. Los resultados presentados en el presente Trabajo de Investigación / Tesis son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 24 julio del 2020.

Firma

[García Horna, Jesús Alain]

N° DNI: 47001832

ORCID: 0000 0002 7287 5290

ANEXO 2

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD DEL ASESOR


ANEXO N° 3

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

| N° repetición | Diámetro de la zona de inhibición (mm) | | | | | |
|------------------|--|------|------|------|-------------|------|
| | Aceite esencial de Rosmarinus officinalis | | | | Amoxicilina | DMSO |
| | 25% | 50% | 75% | 100% | | |
| Placa 1 | 22.5 | 28.4 | 31.5 | 38.9 | 32.8 | 0 |
| Placa 2 | 20.6 | 27.7 | 31.6 | 36.2 | 35.4 | 0 |
| Placa 3 | 18.7 | 27.1 | 35.4 | 34.2 | 33.7 | 0 |
| Placa 4 | 17.8 | 25.8 | 33.3 | 37.4 | 34.2 | 0 |
| Placa 5 | 20.2 | 29.5 | 32.5 | 35.7 | 35.5 | 0 |
| Placa 6 | 17.8 | 28.6 | 34.3 | 38.2 | 33.8 | 0 |
| Placa 7 | 18.6 | 26.2 | 38.5 | 38.3 | 30.4 | 0 |
| Placa 8 | 18.4 | 25.5 | 30.3 | 35.8 | 34.9 | 0 |
| Placa 9 | 18.8 | 28.9 | 35.1 | 35.5 | 35.2 | 0 |
| Placa 10 | 20.4 | 28.2 | 32.7 | 36.4 | 33.4 | 0 |

ANEXO 4

FOTOS DE CONSTANCIA DE EJECUCION DE PROYECTO

**San Jose**
LABORATORIO CLINICO
Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde el Sr. JESÚS ALAIN GARCÍA HORNA, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 comparado con amoxicilina in vitro", durante los días 10 al 19 de febrero de 2020, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 10 días del mes de Marzo de 2020.


.....
José Luis Calla Queveao
.....
BIOLOGO - MICROBIOLÓGICO
.....
C.B.P. 6301
Gerente General

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - ☎ 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/

ANEXO 5

FOTOS DE PROCEDIMIENTO





